

L'ús dels biomarcadors plasmàtics (CKMB i BNP) facilita la detecció de patologies embòliques en l'ictus isquèmic agut

Treball de recerca. Convocatòria de juny de 2010

Autora: Roser Ribosa i Nogué

Directors: Dr. Jose Álvarez Sabin, Dr. Joan Montaner Villalonga, Dr. Estevo Santamarina Pérez

Servei de Neurologia, Hospital Vall d'Hebron de Barcelona

Departament de Medicina. Línia de recerca: Fisiopatologia de la isquèmia cerebral. Universitat Autònoma de Barcelona

Els doctors José Álvarez Sabín (professor titular del Departament de Medicina i cap del Servei de Neurologia de l'Hospital Vall d'Hebron), Joan Montaner Villalonga (director del Laboratori d'Investigació Neurovascular de l'Hospital Vall d'Hebron) i Estevo Santamarina Pérez (metge adjunt de Neurologia de l'Hospital Vall d'Hebron),

FAN CONSTAR

que el treball titulat *L'ús dels biomarcadors plasmàtics (CKMB i BNP) facilita la detecció de patologies embòliques en l'ictus isquèmic agut* ha estat realitzat sota la nostra direcció per la llicenciada Roser Ribosa i Nogué i es troba en condicions de poder ser presentat com a treball d'investigació de 12 crèdits, dins el programa de doctorat en Medicina Interna/Diagnòstic per la Imatge (curs 2009-2010), en la convocatòria de juny.

Dr. Álvarez Sabín Dr. Joan Montaner Villalonga Dr. Estevo Santamarina Pérez

Barcelona, 31 de maig de 2010

ÍNDEX

Resum	4
Introducció	5
Objectiu	9
Material i mètodes	10
Resultats	12
Discussió	20
Conclusions	25
Bibliografia	26

RESUM

Objectiu: L'estudi etiològic precoç permet avançar la prevenció secundària en l'ictus isquèmic. L'objectiu del treball va ser avaluar la utilitat d'alguns biomarcadors per a predir les troballes de l'estudi cardiològic en l'ictus agut.

Mètodes: Es van estudiar 106 pacients amb ictus isquèmic agut no lacunar, en els quals es va fer monitorització electrocardiogràfica i ecocardiograma transtoràcic (ETT) en les primeres hores (<24h) d'admissió. Es van recollir mostres sanguínies (<24h) per determinar els biomarcadors seleccionats: CKMB, pèptid natriurètic cerebral (BNP), D-dímer, mioglobina i troponina I (Triage® Profiler S.O.B™ Panel, Inverness).

Resultats: Es va detectar fibril·lació auricular en 34 pacients (32%), els quals tenien nivells elevats de CKMB ($p = 0,001$) i BNP ($p < 0,001$). En els pacients amb ritme sinusal, l'ETT va identificar patologia embòlica en 45 (62,5%), essent la més freqüent l'ateromatosi greu de l'arc aòrtic (24 pacients, 33,3%) seguida per anomalies de la paret ventricular (12 pacients, 16,7%). Aquests pacients també tenien nivells elevats de CKMB ($p = 0,023$) i BNP ($p = 0,158$). Després de la regressió logística, CKMB i BNP es mantienien com a predictors independents de font embòlica (OR per CKMB > 1,2pg/ml de 5.24 (interval de confiança 1,40 – 19,55) amb $p = 0,014$, OR de BNP > 64pg/ml de 3.69 (IC 1,18 – 11,58) amb $p = 0,025$). La combinació dels dos biomarcadors millorava l'associació amb les troballes ecocardiogràfiques: 73,3% dels pacients amb nivells alts tenien una causa embòlica, comparat amb el 27,3% d'aquells amb nivells baixos ($p = 0,02$).

Conclusions: Els biomarcadors cardíacs (CKMB i BNP) poden millorar el diagnòstic d'embolisme en l'ictus agut, indicant la necessitat de realitzar una exploració cardiològica.

INTRODUCCIÓ

La malaltia cerebrovascular té un gran impacte a nivell sociosanitari. De fet, segons les últimes dades de la OMS es tracta de la segona causa de mort a nivell mundial i també és una font important de morbiditat.¹

Per aquest motiu, és molt important fer una bona prevenció primària, mitjançant sobretot el control dels factors de risc cardiovascular,² un diagnòstic precoç que permeti el tractament adequat³ (que pot incloure l'ús de l'activador del plasminogen tissular)⁴ i una profilaxi secundària òptima per disminuir el risc de recurrència, que es basa en el coneixement de l'etiologia responsable.

La classificació etiològica de l'ictus isquèmic es pot fer en base a diversos sistemes internacionals i nacionals: NINCDS Stroke Data Bank, OCSP, TOAST, SSS-TOAST, Lausanne Stroke Registry, GÉNIC, Grup d'estudis de malalties cerebrovasculars de la Societat espanyola de neurologia (GEECV de la SEN) o A-S-C-O.⁵⁻¹³ Prenent com a referència la classificació més utilitzada, la TOAST, la incidència en la població europea ajustada per l'edat (per 100.000 habitants) dels diferents subtipus etiològics seria la següent¹⁴: ictus cardioembòlic 30,2 (95% del CI del 25,6 a 35,7), ictus aterotrombòtic 15,3% (95% CI del 12 a 19,3), ictus lacunar 25,8 (95% CI del 2,5 a 30,9), ictus d'altres etiologies 2,1 (95% CI del 0,9 a 3,9) i ictus indeterminat (per coexistència de diverses causes, per estudi negatiu o per estudi incomplet) 39,3 (95% del CI del 34 a 45,5).

Tots aquests sistemes es basen en la informació obtinguda de l'exploració física, els antecedents patològics (especialment la presència de factors de risc cardiovascular) i les exploracions complementàries adequades en cada cas. Les exploracions complementàries comprenen: anàlisi sanguínia (hemograma, bioquímica, estudi de

trombofília, estudis endocrinològics, estudis immunològics i serològics), RX de tòrax, ECG, estudi de parènquima cerebral amb tomografia computaritzada (TC) o ressonància magnètica (RM), monitorització electrocardiogràfica contínua en la fase aguda o Holter, ecocardiograma transtoràcic, ecocardiograma transesofàgic, estudi de les artèries extra i intracranials (mitjançant ultrasons, angioRM, angioTC o angiografia per substracció digital), anàlisi del líquid cefaloraquídi, estudis histològics i estudis genètics. Quant a l'ecocardiografia no existeixen unes indicacions ben establertes, però segons les recomanacions del GEECV de la SEN,¹⁵ l'ecocardiografia transtoràcica estaria indicada en aquells pacients amb un ictus criptogenètic de qualsevol edat i en aquells en què es planteja l'administració de tractament anticoagulant sense tenir una indicació prèvia.

Identificar l'etiologia de l'ictus té una extraordinària importància, perquè segons el subtipus, el pronòstic, el risc de recurrència i el tractament farmacològic són diferents.^{14, 16-19} En el cas concret dels ictus d'etiologia cardioembòlica, aquests són els que tenen un risc més alt de recurrència als 2 anys (del 22%, 95% CI del 14 al 30), i un pitjor pronòstic en el mateix període temporal (un 55% de supervivència, 95% CI del 0,47 al 0,63). Lamentablement, però, avui dia i malgrat aplicar totes les exploracions complementàries al nostre abast, encara fins a un 35% aproximadament¹⁴ dels pacients són diagnosticats d'ictus isquèmic d'etiologia indeterminada i, per tant, no poden rebre el tractament preventiu secundari òptim.

Precisament per intentar millorar aquest i altres aspectes en els últims anys s'ha començat a estudiar l'ús de biomarcadors en l'ictus. Els biomarcadors són “característiques que es poden mesurar i avaluar de manera objectiva com a indicadors de processos biològics normals, patològics o de la resposta farmacològica a intervencions terapèutiques”.²⁰ S'utilitzen de manera rutinària en altres camps de la medicina d'urgència, per exemple, la troponina i la CKMB en la síndrome coronària

aguda,²¹ el D-dímer en el tromboembolisme pulmonar i el pèptid natriurètic cerebral (BNP) en la insuficiència cardíaca congestiva. Igualment, s'han demostrat útils en patologies que impliquen el sistema nerviós central, com ara els traumatismes cranioencefàlics,²² l'anòxia global,²³ l'hemorràgia subaracnoïdal²⁴ i les infeccions cerebrals.²⁵

Dins de la patologia neurovascular, s'han descrit diversos biomarcadors que són interessants en diferents àrees. Quant al risc i recurrència de l'ictus, s'ha descrit que està augmentat en cas de detectar senyals embòliques en l'estudi Doppler transcranial,²⁶ quan es compleixen certes característiques de l'estudi sonogràfic i d'angioRM de l'ateromatosi carotídia;²⁷ si hi ha elevació plasmàtica de la proteïna C-reativa,^{28,29} la fosfolipasa A2 associada a lipoproteïna,^{30,31} la cistatina C,³² la P-selectina,³³ l'homocisteïna o la dimetilarginina asimètrica,³⁴ i en certes variants genètiques de la dimetilaminohidrolasa 1 de la dimetilarginina (DDAH1),³⁵ la DDAH2,³⁶ el gen CELSR1,³⁷ les metaloproteïnases de matriu,³⁸ la immunitat³⁹ i altres.^{40,41} Pel que fa al diagnòstic inicial, s'ha observat que l'anàlisi de biomarcadors plasmàtics relacionats amb el dany cerebral (S100B, enolasa específica neuronal, proteïna àcida fibrillar glial), la coagulació (complex inhibidor de la proteïna C activada, APC-PCI),^{42,43} el metabolisme del colesterol⁴⁴ i altres⁴⁵⁻⁵⁰ poden ajudar al diagnòstic precoç de l'ictus isquèmic, diferenciant-lo de l'ictus hemorràgic i d'altres patològiques que poden presentar una clínica similar, els anomenats *stroke mimics*. Igualment, s'han descrit biomarcadors relacionats amb la resposta al tractament fibrinolític, com ara la metaloproteïnasa 9 (MMP-9), la fibronectina,^{51,52} la S100B,⁵³ el PAI-1 i l'inhibidor de la fibrinòlisi activada per trombina (TAFI),⁵⁴ que són predictors de la transformació hemorràgica després del tractament; l'inhibidor de l'activador del plasminogen (PAI-1),⁵¹ el pèptid natriurètic cerebral (BNP)⁵⁵ i el complex trombina-antitrombina (TAT),⁵⁶

relacionats amb la resistència al tractament trombolític i el mal pronòstic; les MMP-9 i MMP-13,⁵¹ relacionades amb el creixement de la lesió en difusió malgrat el tractament; i la proteïna C reactiva,⁵¹ que s'associa a mortalitat després de les teràpies de reperfusió. Quant a al pronòstic, s'han descrit la ferritina sèrica,⁵⁷ associada a una pitjor evolució en l'ictus hemorràgic, la S100B⁵⁸ i la fibronectina cel·lular,⁵⁹ relacionades amb el desenvolupament d'un infart maligne, i d'altres.^{60,61} Fins i tot, s'han descrit biomarcadors com a possibles dianes de tractament, de manera que fàrmacs que inhibissin les metaloproteïnases de matriu, els radicals lliures, l'enzim convertidor del factor alfa de necrosi tumoral (TACE) o la interacció del mediador immune CD40 amb el seu lligand (CD40L), podrien ser útils per al tractament o la prevenció de l'ictus.⁶²⁻⁶⁶

Respecte el diagnòstic etiològic, s'han publicat estudis que relacionen diversos marcadors amb les diferents causes. Així, s'han descrit certs factors hemostàtics, concretament marcadors d'activació de la coagulació (nivells elevats de fibrinopeptidasa A i del complex trombina-antitrombina III, amb nivells baixos de l'antigen de la proteïna C i l'activitat antitrombina III) i marcadors d'activació de la fibrinòlisi (elevació del D-dímer, activador del plasminogen tissular i del complex plasmina-antiplasmina- α_2) com a indicadors de l'etiologia cardioembòlica.⁶⁷⁻⁷² També s'han relacionat amb patologia cardioembòlica marcadors de perfil lipídic (nivells elevats de lipoproteïna A),⁷³ d'inflamació sistèmica (proteïna C reactiva)⁷⁴⁻⁷⁶ i de la funció cardíaca (elevació de BNP).⁷⁷⁻⁸⁰ Quant a l'ictus aterotrombòtic i lacunar, s'ha descrit que els nivells plasmàtics del receptor soluble dels productes de la glicació avançada (sRAGE), relacionat amb la disfunció endotelial i la leucoaraiosi, estan disminuïts en aquests dos subgrups, suggerint el seu paper en l'ateromatosis.^{77,81-83} D'altra banda, els nivells de marcadors de l'agregació plaquetària, concretament del factor plaquetari-4 (PF-4) i de la tromboglobulina- β (BTG), s'han descrit com a més

elevats en l'ictus aterotrombòtic respecte el cardioembòlic,⁸⁴ i com a normals en l'ictus lacunar i en l'ictus isquèmic transitori, (sense modificar-se amb la teràpia antiagregant).⁸⁵ Igualment, s'ha observat que l'activació plaquetària, mesurada mitjançant l'expressió de les molècules CD63 i P-selectina, i la interacció plaquetes-leucòcits està augmentada en l'ictus aterotrombòtic respecte el lacunar i es pot mantenir en la fase crònica.^{86,87} Quant a l'ictus criptogenètic, l'anàlisi dels nivells del fragment d'activació de la protrombina F1.2, que són més elevats en l'ictus cardioembòlic,⁸⁸ no difereixen dels ictus no cardioembòlics (lacunars o aterotrombòtics)⁸⁹ i, per tant, no permeten esclarir-ne la causa. Fins i tot, s'ha descrit que la composició de la placa d'ateroma (contingut de macròfags, cèl·lules T i MMP-9) podria diferenciar entre mecanisme hemodinàmic o aterotrombòtic de l'ictus,⁹⁰ i que l'expressió gènica en sang perifèrica podria ser diferent entre els subgrups cardioembòlic i aterotrombòtic.⁹¹

Ara bé, cal recordar que fins ara la fosfolipasa A2 associada a lipoproteïna és l'únic biomarcador aprovat per la *Food and Drug Administration (FDA)* per avaluar el risc d'ictus. Per tant, caldran més estudis perquè la resta dels biomarcadors descrits puguin passar a ser utilitzats en la clínica diària.

OBJECTIU

En base a tots els fonaments exposats, l'objectiu de l'estudi va ser avaluar la possible utilitat d'alguns biomarcadors per a predir les troballes de l'estudi cardiològic en l'ictus agut.

MATERIAL I MÈTODES

Mostra

Es van estudiar tots els pacients admesos a la Unitat d'Ictus de l'Hospital Vall d'Hebron entre novembre de 2006 i gener de 2007. D'aquests, es van escollir aquells pacients que complien dues condicions: patir un ictus no lacunar de menys de 24h d'evolució i no tenir patologia de gran vas intra o extracranial. El primer supòsit es determinava per l'anamnesi, l'exploració neurològica i la neuroimatge (TC cranial o RM cranial urgent) i el segon mitjançant la realització d'un estudi eco-Doppler de troncs supraaòrtics i transcranial.

Protocol clínic

De cada pacient, es recollien les dades demogràfiques (edat i sexe) i clíniques d'interès. Es preguntava específicament pels factors de risc cardiovascular: hipertensió arterial, dislipèmia, diabetis *mellitus*, cardiopatia coneguda, història d'ictus previs, obesitat i tabac, així com pel tractament farmacològic previ. Durant l'ingrés i d'acord amb la pràctica clínica habitual de la Unitat, a tots els pacients es realitzava una analítica general. Igualment, es realitzava en alguns casos i segons criteri mèdic una prova de neuroimatge de control. Es determinava la puntuació de la NIHSS a l'arribada i a l'alta, el Rankin a l'alta hospitalària i es classificava l'ictus com a AIT o ictus establert i també d'acord amb el sistema de l'OCSP.

Dins del protocol específic de l'estudi, en tots els pacients es va fer una avaluació cardiològica inicial mitjançant monitorització electrocardiogràfica poder detectar una arítmia embolígena. En els pacients en els quals l'estudi va ser negatiu es va realitzar un estudi cardiològic precoç mitjançant ecocardiograma transtoràcic de

segon harmònic. El temps mitjà de realització d'aquesta exploració complementària va ser de 14 hores (+/- 9 hores) i els cardiòlegs van seguir un protocol en el qual s'analitzaven tres aspectes: primer detectaven la presència de trombus, després descrivien qualsevol anomalia estructural potencialment cardioembòlica i per últim, realitzaven una avaluació de l'arc aòrtic. Es van considerar anomalies embòliques les alteracions de la paret ventricular, descrites com acinèsies o discinèsies; les valvulopaties; la cardiomiopatia dilatada; el *foramen ovale* permeable; l'ecocontrast espontani a l'aurícula; i l'ateromatosi complicada de l'arc aòrtic. Cal tenir en compte que el grau d'ateromatosi es va determinar en base als criteris següents: es classificava com a lleugera en el cas de la presència de plaques d'ateroma inferiors a 1mm, moderada en el cas que aquestes tinguessin d'1 a 4 mm i greu en el cas de l'existència de plaques mòbils o de mida superior a 4 mm.

Recollida de mostres

De cadascun dels pacients, a la seva arribada a Urgències (dins les primeres 24h), es van recollir mostres sanguínies anticoagulades amb EDTA, es van centrifugar a 3500 rpm durant 15 minuts a 4°C i es van congelar a -80°C fins a ser processades.

Els biomarcadors plasmàtics seleccionats per l'estudi van ser: pèptid natriurètic cerebral (BNP), D-dímer, CKMB, mioglobina i troponina I, i es van analitzar mitjançant Triage® Profiler S.O.B™ Panel (Inverness), mètode quantitatiu basat en un immunoassaig de fluorescència que utilitza com a lector el Triage MeterPuls.

Anàlisi estadística

Inicialment es va fer un estudi descriptiu de la mostra. Posteriorment es va fer una anàlisi estadística per comparar els factors de risc entre els dos grups d'etiologia:

ictus embòlic i ictus de causa indeterminada mitjançant el test de Chi-Square en el cas de les variables qualitatives dicotòmiques (sexe, tabac, hipertensió arterial, diabetis *mellitus*, dislipèmia, ictus previ, obesitat, AIT vs ictus establert) i no dicotòmiques (cardiopatia prèvia i classificació OCSP), i el test de U de Mann-Whitney en el cas de les variables numèriques (NIHSS basal). La comparació entre els nivells dels diferents biomarcadors i el grup etiològic es va realitzar mitjançant també el test de la U de Mann-Whitney. Per millorar l'associació estadística, es van buscar mitjançant la corba ROC els punts de tall que diferenciaven millor entre les dues etiologies i es va fer regressió logística ajustada pels factors de risc per valorar les variables associades de forma independent. Vam considerar estadísticament significatiu un p-valor inferior a 0,05.

RESULTATS

De tots els pacients admesos a la Unitat d'Ictus en el període determinat, se'n van escollir 106 que complien els criteris escollits.

Tenien una edat mitja de 71 anys, la majoria eren hipertensos i un 25% tenien antecedents d'ictus previ. Les característiques demogràfiques i factors de risc cardiovascular es mostren en la taula següent:

Característiques demogràfiques i factors de risc cardiovascular	Mitja (\pm desviació estàndard) o percentatge
Edat	71,32 anys \pm 13,58
Homes vs dones	53,5% vs 46,5%

Característiques demogràfiques i factors de risc cardiovascular	Mitja (\pm desviació estàndard) o percentatge
Hipertensió arterial	66,7%
Diabetis <i>mellitus</i>	26,3%
Dislipèmia	36,8%
Obesitat	11,4%
Tabaquisme	27,2%
Ictus previ	25,4%
Cardiopatia coneguda	28,1%

En la taula següent es mostren les característiques clíniques de la mostra:

Característiques clíniques	Mitjana (p25- p75) o percentatge
NIHSS basal	6 (3 – 16,25)
NIHSS a l'alta	2 (0 – 6,25)
Rankin	2 (1 – 3)
AIT vs infart establert	16,7% vs 83,3%
LACI	5,3%
PACI	48,2%
TACI	33,3%
POCI	13,2%

Amb la monitorització electrocardiogràfica es va detectar un arítmia embolígena (bàsicament fibril·lació auricular) en 34 pacients (32%).

Resultat monitorització ECG	Nombre de pacients (percentatge respecte el total de la mostra)
Ritme sinusal	72 (69%)
Fibril·lació auricular	34 (32%)
Total pacients	106 (100%)

En els restants, que van ser 72 (67,9%), es va fer l'estudi ecocardiogràfic transtoràcic que va detectar anomalies embolígenes en 45 (62,5%) pacients. Les més prevalents van ser la detecció d'una ateromatosi greu de l'arc aòrtic, descrita com la presència d'una placa d'ateroma més gran de 4mm o mòbil, que es va detectar en 24 pacients (33,3%), i anomalies de la paret ventricular, descrites com acinèsies o discinèsies, i detectades en 12 pacients (16,7%).

En la taula següent es mostren els resultats de l'estudi ecocardiogràfic:

Resultat de l'estudi ecocardiogràfic	Nombre de pacients (percentatge respecte els pacients amb ritme sinusal)
Ateromatosi greu de l'arc aòrtic	24 (33.3%)
Anomalies de la paret ventricular	12 (16.67%)
Valvulopatia	3 (4.17%)
Cardiomiopatia dilatada	1 (1.39%)
<i>Foramen ovale</i> permeable	5 (6.94%)
Total de pacients amb anomalies embolígenes	45 (62.5%)

Amb aquests resultats, la classificació de l'etiologia de l'ictus en els pacients amb ritme sinusal va ser la següent:

Etiologia de l'ictus	Nombre de pacients (percentatge respecte els pacients amb ritme sinusal)
Ictus d'etiologia indeterminada	27 (37,5%)
Ictus embòlic	45 (62,5%)
Pacients amb ritme sinusal	72 (100%)

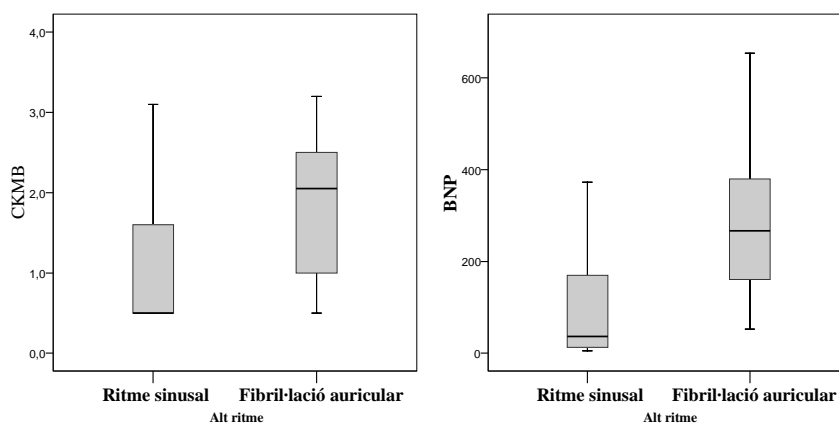
Comparant la mostra de pacients amb etiologia indeterminada i la dels pacients amb patologia embòlica per factors de risc cardiovascular i les característiques clíniques, no es van detectar diferències significatives, com veiem en la següent taula:

Factor de risc cardiovascular (mitja o percentatge)	Ictus d'etiologia indeterminada (mitja)	Ictus embòlic (mitja)	Valor p
Edat	68,4	67,84	0,852
Dones	45,2%	40,5%	0,674
Hipertensió arterial	64,3%	62,2%	0,845
DM	31%	16,2%	0,126
Dislipèmia	35,7%	45,9%	0,355
Obesitat	4,8%	5,4%	0,896
Tabaquisme	33,3%	32,4%	0,932
Ictus previ	19%	29,7%	0,268
Cardiopatia coneguda	19%	27%	0,364

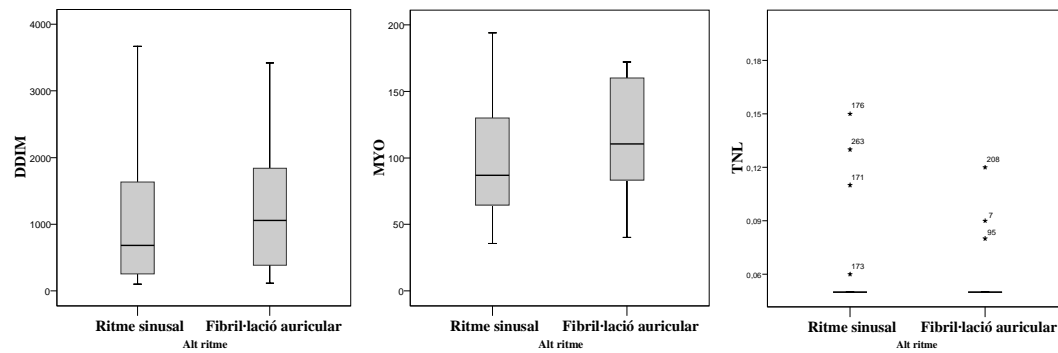
Factor de risc cardiovascular (mitja o percentatge)	Ictus d'etiologia indeterminada (mitja)	Ictus embòlic (mitja)	Valor p
NIHSS basal	7,67	9,19	0,64
AIT	19%	21,6%	0,776
LACI/PACI/TACI/POCI	4,8%/47,6%/31%/16,7%	8,1%/51,4%/29,7%/10,8%	0,826

En cada un dels 106 pacients de la mostra inicial es van analitzar els biomarcadors plasmàtics seleccionats: peptid natriurètic cerebral (BNP), D-dímer (DDIM), CKMB, mioglobina (MYO) i troponina (TNL).

Comparant aquells pacients amb ritme sinusal respecte aquells amb fibril·lació auricular, es van observar uns nivells significativament més alts tant de CKMB ($p=0.001$) com de BNP ($p < 0.001$) en els pacients amb fibril·lació auricular.

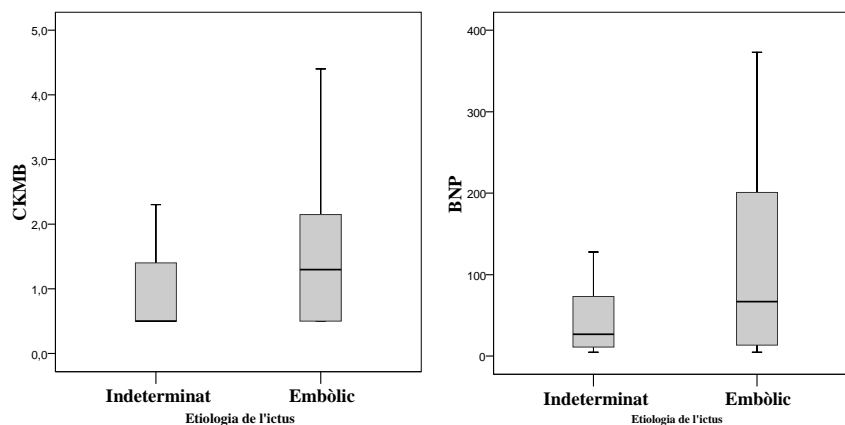


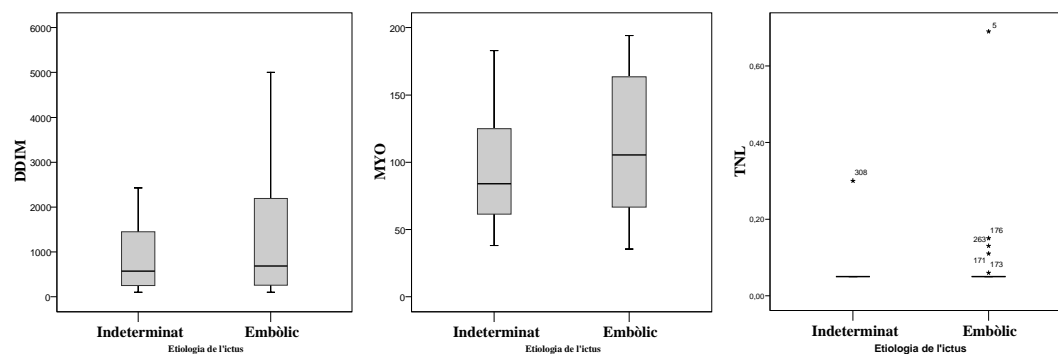
No es va trobar una associació significativa amb els altres biomarcadors: D-dímer ($p = 0.223$), mioglobina ($p = 0.072$) i troponina ($p = 0.096$).



Test estadístic	CKMB	BNP	DDIM	MYO	TNL
Ritme sinusal	0,5	39,7	682	86,8	0,05
(mitjana p25 - p75)	(0,5 – 1,6)	(14,35 – 179,5)	(256,5 – 1635)	(64,6 – 130)	(0,05 – 0,05)
Fibril·lació auricular	2	261	1080	109	0,05
(mitjana p25 - p75)	(1 – 2,45)	(156 – 387)	(369,5 – 1950)	(83 – 166)	(0,05 – 0,95)
Valor p	0,001	< 0,001	0,223	0,072	0,096

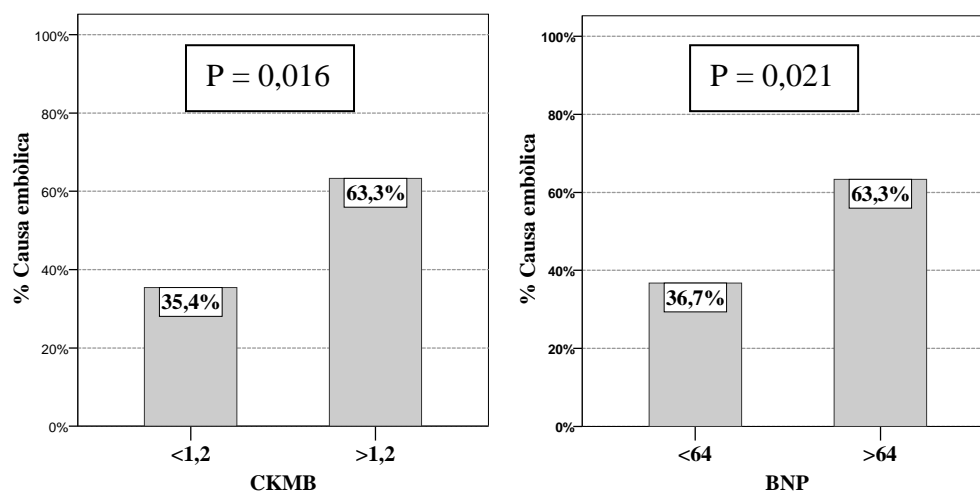
Després es van comparar aquells pacients amb un estudi ecocardiogràfic normal respecte aquells en els quals es detectava alguna anomalia embolígena. En els segons es van detectar de nou uns nivells més elevats de CKMB ($p=0.023$) i de BNP ($p=0.158$), tot i que en el cas del BNP no va ser una associació estadísticament significativa.



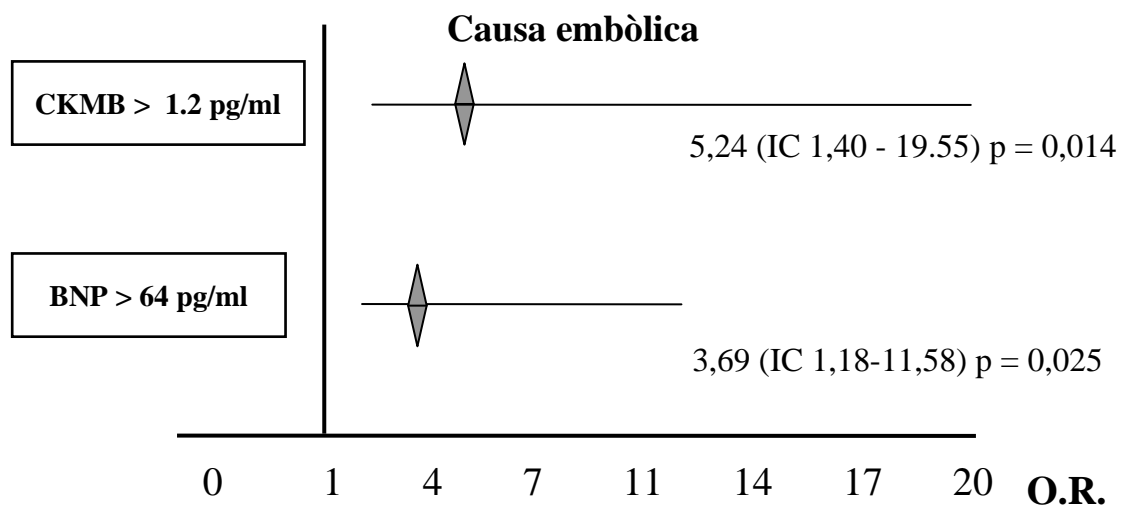


Test estadístic	CKMB	BNP	DDIM	MYO	TNL
Ictus d'etiologia indeterminada	0,5	27,7	572	84,7	0,05
(mitjana p25 - p75)	(0,5 – 1,4)	(13,15 – 77,15)	(237,5 – 1455)	(61,55 – 125)	(0,05 – 0,05)
Ictus embòlic	1,3	81,3	690	104	0,05
(mitjana p25 - p75)	(0,5 – 2,2)	(13,7 – 229)	(258 – 2190)	(66,2 – 159)	(0,05 – 0,05)
Valor p	0,023	0,158	0,411	0,102	0,069

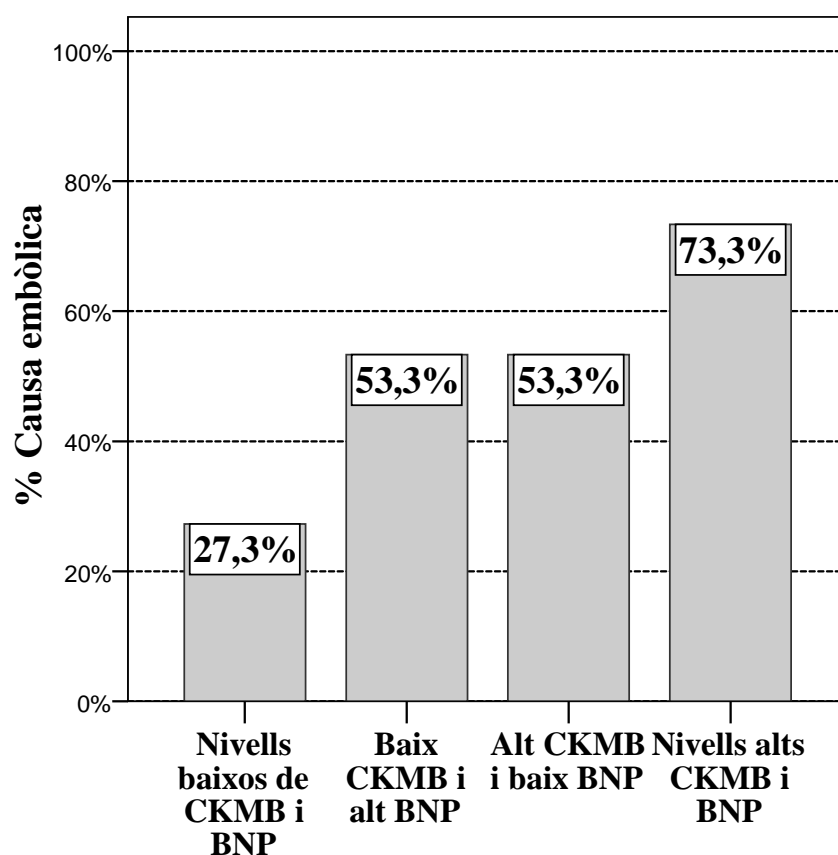
Analitzant per punts de tall, nivells de CKMB per sobre de 1,2 pg/ml ($p = 0,016$) i BNP per sobre de 64 pg/ml ($p = 0,021$) i s'associaven de manera estadísticament significativa amb la troballa d'una causa embòlica en l'estudi cardiològic.



Aquests mateixos valors van romandre com a predictors independents de causa embòlica en realitzar la regressió logística ajustada per factors de risc, edat, sexe i puntuació en la NIHSS basal. Així l'odds ratio per CKMB > 1.2pg/ml va ser de 5,24 (IC 1.40 - 19.55) amb una $p = 0.014$, i l'odds ratio de BNP > 64pg/ml va ser de 3.69 (IC 1.18 - 11.58) amb una $p = 0.025$.



Per últim, la combinació dels dos biomarcadors millorava la discriminació entre les dues etiologies, obtenint un 73,3% de causa embòlica quan els nivells d'ambdós biomarcadors eren alts i només del 27,3% quan els nivells eren baixos ($p = 0,02$).



DISCUSSIÓ

L'objectiu d'aquest estudi va ser trobar uns biomarcadors plasmàtics que ajudessin en el diagnòstic etiològic de l'ictus. Aquest camp té un desenvolupament molt recent i per aquest motiu hi ha pocs treballs científics adreçats específicament en aquest sentit.⁶⁷⁻⁹¹

L'avantatge principal de disposar d'un conjunt de biomarcadors que permetessin fer un diagnòstic etiològic seria disminuir l'alt percentatge d'ictus d'etologia indeterminada, que arriba a ser del 35%,¹⁴ de manera que aquests pacients poguessin rebre un tractament profilàctic secundari òptim. Precisament amb aquest objectiu i, davant la sospita que la majoria d'ictus criptogenètics siguin d'etologia embòlica (fins

a un 60% dels ictus serien de causa cardioembòlica o aortoembòlica segons alguns treballs),⁹² s'han fet estudis amb exploracions complementàries no rutinàries per avaluar-ne l'eficàcia. La monitorització electrocardiogràfica contínua mitjançant Holter, per exemple, és capaç de detectar un major nombre de pacients amb fibril·lació auricular que amb l'ECG de rutina (s'observen 5% més de FA amb un Holter de 24h i un 5,7% més amb un Holter de 7 dies),^{93,94} però no queda demostrat que monitoritzacions de molt llarga durada puguin ser útils.⁹⁵ D'altra banda, els estudis electrofisiològics mostren que pacients amb ictus criptogenètic tenen una vulnerabilitat auricular similar als pacients amb arítmia paroxística (es poden induir arítmies atrials amb un percentatge similar)⁹⁶ i que aquesta es pot relacionar amb anomalies del septe auricular, que podrien afavorir la formació de trombus.⁹⁷ L'avaluació de l'arc aòrtic és important perquè permet detectar plaques d'ateroma complicades (de mida igual o superior a 4mm o mòbils) que s'han descrit com a font de material embòlic (d'un 10 a 12% dels pacients amb aquestes plaques tindran un ictus en un any).^{98,99} La seva importància en aquest sentit es posa de relleu per la detecció de senyals embòliques en l'estudi Doppler transcranial.¹⁰⁰⁻¹⁰¹ Habitualment la valoració es feia mitjançant ecocardiograma transesofàgic (ETE), però últimament s'han descrit com a tècniques vàlides el Doppler transtoràcic amb mode B, que és menys invasiu i que té una fiabilitat acceptable (del 86%);¹⁰² i la RM de 3 Tesla, que és més sensible en la detecció de plaques i és capaç de detectar altres patologies i, per tant, estaria indicada en pacients amb ictus criptogenètic.¹⁰³ L'estudi cardiològic permet detectar també fonts embòliques, que es classifiquen com de risc alt o mig-incert.¹⁰⁴ Cal destacar que dins de la categoria de risc mig-incert es troba el *foramen ovale* permeable, que sembla tenir un paper com a font embòlica en pacient joves sense altres factors de risc cardiovascular i quan s'associa a aneurisma del septe auricular.¹⁰⁵ La seva importància real, però és incerta

perquè els estudis actuals són retrospectius i sense cec caldrà realitzar estudis prospectius i aleatoritzats per definir-la.¹⁰⁶ L'estudi cardiològic més exhaustiu és el realitzat mitjançant l'ETE¹⁰⁷ però amb l'aparició de l'ecocardiograma transtoràcic de segon harmònic i l'ecocardiograma Doppler transmitral amb contrast, s'ha aconseguit augmentar la sensibilitat i l'especificitat d'aquesta exploració no invasiva, acostant-la a la fiabilitat de l'anterior¹⁰⁸. Cal destacar la importància de fer un estudi precoç, tenint en compte que el material tromboembòlic té tendència a dissoldre's en les primeres 72 hores i per tant es fa indetectable més enllà d'aquest període.¹⁰⁹ Altres exploracions útils en l'ictus criptogenètic són el Doppler transcranial amb contrast per detectar shunts dreta-esquerra; en cas de shunt interatrial, la sonografia Dúplex i venografia RM per descartar trombosi venosa profunda; en cas de shunt intrapulmonar, l'estudi amb TC toràcica per descartar malformacions arteriovenoses; i, per últim, estudis d'hipercoagulabilitat i estudis genètics quan està indicat.¹¹⁰

Per tots aquests motius, en el nostre cas es va voler augmentar la precisió del diagnòstica mitjançant una monitorització electrocardiogràfica i un estudi ecocardiogràfic transtoràcic de segon harmònic precoç que inclogués sistemàticament l'avaluació de l'arc aòrtic. D'aquesta manera 34 (32%) pacients dels 106 de la mostra inicial van ser diagnosticats d'ictus cardioembòlic per detectar-se arítmia potencialment embolígena amb l'estudi electrocardiogràfic, i 45 (62,5%) dels 72 restants d'ictus embòlic per detectar-se anomalies embolígenes en l'estudi ecocardiogràfic precoç. Dins de la patologia embòlica, la més freqüent (33,3%) va ser l'ateromatosi greu de l'arc aòrtic (ictus aortoembòlic o aterotromboembòlic) i en segon lloc (16,7%) les anomalies de la paret ventricular (ictus cardioembòlic). Per tant, van quedar amb un diagnòstic etiològic indeterminat 27 dels pacients de la mostra inicial (el 25%), que és un percentatge baix tenint en compte que s'havien exclòs de l'estudi els pacients amb ictus

lacunar i aterotrombòtic. Aquestes dades posen de relleu en primer lloc, i tal com ja ha estat comentat, la importància de realitzar una avaluació completa i precoç de tots els pacients. En segon lloc, confirmen les troballes d'estudis previs, en què la majoria d'ictus indeterminats corresponen a una causa embòlica indeterminada.¹¹¹ Per últim, tenint en compte les característiques de la mostra, amb una edat mitja de 71,3 anys i amb un elevat percentatge de factors de risc cardiovascular (un 66,7% dels pacients eren hipertensos), els resultats estan també en la línia del que està descrit en la literatura¹¹⁰ i mostren la importància de la patologia ateromatosa de l'arc aòrtic en l'ictus criptogenètic dels pacients d'edat avançada, quedant la patologia controvertida del *foramen ovale*, típica de pacients més joves, en un lloc relegat.

En el moment de dissenyar l'estudi es van escollir biomarcadors que podien ajudar a determinar una etiologia cardioembòlica. Així, es van escollir el BNP,⁷⁷⁻⁸⁰ que és un marcador d'insuficiència cardíaca i d'isquèmia miocàrdica¹¹² que també ha estat descrit com a marcador de patologia cardioembòlica i de resistència al tractament fibrinolític i mal pronòstic; el D-dímer,^{71,72,77} que és un indicador de l'augment de la fibrinòlisi; i els marcadors de lesió isquèmia miocàrdica CKMB, mioglobina i troponina I, que s'han descrit també com a marcadors de lesió miocàrdica no isquèmica i com a marcadors de mal pronòstic.¹¹³⁻¹¹⁶

Els resultats del treball mostren, com era esperable, uns nivells més elevats dels biomarcadors en els pacients amb fibril·lació auricular, amb una relació estadísticament significativa en el cas de la CKMB i el BNP. El mateix passa amb els pacients amb ritme sinusal en els quals es detecta una font embòlica, però l'associació estadística és menys consistent i augmenta en fer l'associació de dos biomarcadors. És destacable que un biomarcador tradicionalment reconegut com a indicador de font cardioembòlica, com és el D-dímer, no tingui una associació estadísticament significativa amb el grup de

pacients amb fibril·lació auricular ni amb el grup de pacients amb causa embòlica. Aquests resultats podrien estar justificats pel fet que els grups etiològics analitzats en realitat no són homogenis. Així, en el grup amb pacients amb ritme sinusal en realitat hi ha pacients que tenen una etiologia cardioembòlica (que es detecta posteriorment en l'ecocardiograma) i per aquest motiu es podrien igualar els nivells del D-dímer en els dos grups. De la mateixa manera, en el grup de pacients amb etiologia embòlica hi ha pacients amb patologia aterotromboembòlica, en la qual es formen trombus en què predomina el component plaquetari (trombus blancs) en comparació amb la patologia cardioembòlica, en la qual es formen trombus per estasi en què predomina la fibrina (trombus vermells).⁷² Per tant, els pacients amb patologia aortoembòlica probablement no tindrien una activació de la fibrinòlisi i per aquest motiu els seus nivells de D-dímer serien normals, desdibuixant així també les diferències entre el grup de pacients amb patologia embòlica i indeterminada. Pel que fa als altres tres biomarcadors, la CKMB, la mioglobina i la troponina I, les explicacions podrien ser equivalents.

Com a limitacions de l'estudi, cal tenir en compte per una banda, la falta d'un *gold standard*, com ara l'anatomia patològica, que permeti confirmar l'etiologia exacta de l'ictus. En el nostre cas la classificació es va fer en base al TOAST, que és un dels sistemes més utilitzats però que no té una fiabilitat del 100%. D'altra banda, no es va fer estudi amb ecocardiograma transesofàgic en els pacients amb ictus d'etiologia indeterminada, que és la prova reconeguda com a més sensible i específica avui dia per a la detecció de patologia embòlica cardíaca i aòrtica. Per últim, la mostra dels pacients en els quals la determinació dels biomarcadors es mostra útil (79) és relativament petita i caldria confirmar els resultats en una mostra més gran.

En qualsevol cas, els resultats indiquen que en cas de tenir a l'abast l'anàlisi ràpida d'aquests biomarcadors es podrien seleccionar aquells pacients amb més

probabilitat de tenir anomalies en l'estudi ecocardiogràfic i que, per tant, es beneficiarien d'un estudi cardiològic precoç, millorant la classificació etiològica de l'ictus.

CONCLUSIONS

Els resultats d'aquest estudi mostren:

- Nivells elevats de certs biomarcadors en fase aguda (CKMB i BNP) s'associen a una major probabilitat de detectar anomalies embolígenes en l'estudi ecocardiogràfic en l'ictus isquèmic agut
- L'anàlisi d'aquests biomarcadors, per tant, pot millorar el diagnòstic etiològic, indicant la necessitat de realitzar una exploració cardiològica precoç
- Caldrien més estudis per trobar aquells biomarcadors que siguin més adequats per fer un diagnòstic etiològic precoç i així optimitzar la profilaxi secundària dels pacients amb infarts isquèmics cerebrals

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization: *The global burden of disease: 2004 update*.
2. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, Appel LJ, Brass LM, Bushnell CD, Culebras A, Degraza TJ, Gorelick PB, Guyton JR, Hart RG, Howard G, Kelly-Hayes M, Nixon JV, Sacco RL; American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group; American Academy of Neurology. «Primary prevention of ischemic stroke». *Stroke*. 2006; 37: 1583-633.
3. Adams HP Jr, del Zoppo G, Alberts MJ, Bhatt DL, Brass L, Furlan A, Grubb RL, Higashida RT, Jauch EC, Kidwell C, Lyden PD, Morgenstern LB, Qureshi AI, Rosenwasser RH, Scott PA, Wijdicks EF; American Heart Association; American Stroke Association Stroke Council; Clinical Cardiology Council; Cardiovascular Radiology and Intervention Council; Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups. «Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke». *Stroke*, 2007; 38: 1655-711.
4. «Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group». *N Engl J Med*. 1995; 333: 1581-7.
5. Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Hennerici MG. «Classification of stroke subtypes». *Cerebrovasc Dis*. 2009; 27: 493-501.

6. Mohr JP, Caplan LR, Melski JW, Goldstein RJ, Duncan GW, Kistler JP, Pessin MS, Bleich HL. «The Harvard Cooperative Stroke Registry: a prospective registry». *Neurolog.*, 1978, 28: 754-62.
7. Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, Warlow C. «Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction». *Lancet*. 1991; 337: 1521-6.
8. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd. «Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment». *Stroke.*, 1993; 24: 35-41.
9. Ay H, Furie KL, Singhal A, Smith WS, Sorensen AG, Koroshetz WJ. «An evidence-based causative classification system for acute ischemic stroke». *Ann Neuro.*, 2005; 58: 688-97.
10. Bogousslavsky J, Van Melle G, Regli F. «The Lausanne Stroke Registry: analysis of 1,000 consecutive patients with first stroke». *Stroke*. 1988; 19: 1083-92.
11. Touboul PJ, Elbaz A, Koller C, Lucas C, Adraï V, Chédru F, Amarenco P. «Common carotid artery intima-media thickness and brain infarction : the Etude du Profil Génétique de l'Infarctus Cérébral (GENIC) case-control study. The GENIC Investigators». *Circulation.*, 2000; 102: 313-8.
12. Arboix A, Díaz J, Pérez-Sempere A, Alvarez-Sabín J en nombre del Comité de Redacción ad hoc del Grupo de estudio de Enfermedades Cerebrovasculares de la SEN. «Ictus. Tipos etiológicos y criterios diagnósticos». *Neurología*. 2002; 17 (supl 3): 3-12.
13. Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Hennerici MG. «New approach to stroke subtyping: the A-S-C-O (phenotypic) classification of stroke». *Cerebrovasc Di.*, 2009; 27: 502-8.

14. Kolominsky-Rabas PL, Weber M, Gefeller O, Neundoerfer B, Heuschmann PU. «Epidemiology of ischemic stroke subtypes according to TOAST criteria: incidence, recurrence, and long-term survival in ischemic stroke subtypes: a population-based study». *Stroke*. 2001; 32: 2735-40.
15. Comité ad hoc del Grupo del Estudio del Enfermedadels Cerebrovasculares. *Guía para el diagnóstico y tratamiento del ictus*. Sociedad Española del Neurología. 2006.
16. Yokota C, Minematsu K, Hasegawa Y, Yamaguchi T. «Long-term prognosis, by stroke subtypes, after a first-ever stroke: a hospital-based study over a 20-year period». *Cerebrovasc Dis*. 2004; 18: 111-6.
17. de Jong G, van Raak L, Kessels F, Lodder J. «Stroke subtype and mortality. A follow-up study in 998 patients with a first cerebral infarct». *J Clin Epidemiol*.. 2003; 56: 262-8.
18. Eriksson SE, Olsson JE. «Survival and recurrent strokes in patients with different subtypes of stroke: a fourteen-year follow-up study». *Cerebrovasc Dis*. 2001; 12: 171-80.
19. Anderson CS, Jamrozik KD, Broadhurst RJ, Stewart-Wynne EG. «Predicting survival for 1 year among different subtypes of stroke. Results from the Perth Community Stroke Study». *Stroke*. 1994; 25: 1935-44.
20. Colburn WA. «Optimizing the use of biomarkers, surrogate endpoints, and clinical endpoints for more efficient drug development». *J Clin Pharmacol*.. 2000, 40:1419-27.
21. Wu AH «Early detection of acute coronary síndromes and risk stratification by multimarker analysis». *Biomark Med*., 2007; 1: 45-57.
22. Raabe A, Seifert V. «Protein S-100B as a serum marker of brain damage in severe head injury: preliminary results». *Neurosurg rev*. 2000; 23: 136-8.

23. Böttiger BW, Möbes S, Glätzer R, Bauer H, Gries A, Bärtsch P, Motsch J, Martin E. «Astroglial protein S-100 is an early and sensitive marker of hypoxic brain damage and outcome after cardiac arrest in humans». *Circulation*. 2001; 103: 2694-8.
24. Vos PE, van Gils M, Beems T, Zimmerman C, Verbeek MM. «Increased GFAP and S100beta but not NSE serum levels after subarachnoid haemorrhage are associated with clinical severity». *Eur J Neurol*.. 2006;13: 632-8.
25. Undén J, Christensson B, Bellner J, Alling C, Romner B. «Serum S100B levels in patients with cerebral and extracerebral infectious disease». *Scand J Infect Dis*. 2004;36:10-3.
26. King A, Markus HS. «Doppler embolic signals in cerebrovascular disease and prediction of stroke risk: a systematic review and meta-analysis». *Stroke*. 2009;40: 3711-7.
27. Nighoghossian N, Derex L, Douek P. «The vulnerable carotid artery plaque: current imaging methods and new perspectives». *Stroke*. 2005; 36: 2764-72.
28. J.D. Curb, R.D. Abbott and B.L. Rodriguez et al. «C-reactive protein and the future risk of thromboembolic stroke in healthy men». *Circulation*. 107: 2016–2020.
29. N.S. Rost, P.A. Wolf and C.S. Kase et al., «Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham Study». *Stroke*. 32: 2575–2579.
30. Gorelick PB. «Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of stroke». *Am J Cardiol*. 2008; 101:34F-40F.
31. Elkind MS, Tai W, Coates K, Paik MC, Sacco RL. «Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and risk of recurrent stroke». *Cerebrovasc Dis*. 2009; 27: 42-50.

32. Hoke M, Amighi J, Mlekusch W, Schlager O, Exner M, Sabeti S, Dick P, Koppensteiner R, Minar E, Rumpold H, Wagner O, Schillinger M. «Cystatin C and the risk for cardiovascular events in patients with asymptomatic carotid atherosclerosis». *Stroke*. 2010; 41: 674-9.
33. Blann AD, Nadar SK, Lip GY. «The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease». *Eur Heart J*. 2003; 24: 2166-79.
34. Yoo JH, Lee SC. «Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke». *Atherosclerosis*. 2001;158: 425-30.
35. Ding H, Wu B, Wang H, Lu Z, Yan J, Wang X, Shaffer JR, Hui R, Wang DW. «A novel loss-of-function DDAH1 promoter polymorphism is associated with increased susceptibility to thrombotic stroke and coronary heart disease». *Circ Res*. 2010; 106: 1145-52.
36. Bai Y, Chen J, Sun K, Xin Y, Liu J, Hui R. «Common genetic variation in DDAH2 is associated with intracerebral haemorrhage in a Chinese population: a multi-centre case-control study in China». *Clin Sci (Lond)*. 2009; 117: 273-9.
37. Yamada Y, Fuku N, Tanaka M, Aoyagi Y, Sawabe M, Metoki N, Yoshida H, Satoh K, Kato K, Watanabe S, Nozawa Y, Hasegawa A, Kojima T. «Identification of CELSR1 as a susceptibility gene for ischemic stroke in Japanese individuals by a genome-wide association study». *Atherosclerosis*. 2009; 207: 144-9.
38. Ye S. «Influence of matrix metalloproteinase genotype on cardiovascular disease susceptibility and outcome». *Cardiovasc Res*. 2006; 69: 636-45.
39. DeGraba TJ. «Immunogenetic susceptibility of atherosclerotic stroke: implications on current and future treatment of vascular inflammation». *Stroke*. 2004; 35: 2712-9.
40. Kubo M. «Genetic risk factors of ischemic stroke identified by a genome-wide association study». *Brain Nerve*. 2008; 60: 1339-46.

41. Lee BC, Lee H, Park HK, Yang JS, Chung JH. «Susceptibility for ischemic stroke in four constitution medicine is associated with polymorphisms of FCGR2A and IL1RN genes». *Neurol Res.* 2010; 32:43-7.
42. Undén J, Strandberg K, Malm J, Campbell E, Rosengren L, Stenflo J, Norrving B, Romner B, Lindgren A, Andsberg G. «Explorative investigation of biomarkers of brain damage and coagulation system activation in clinical stroke differentiation». *J Neurol.* 2009; 256: 72-7.
43. Foerch C, Curdt I, Yan B, Dvorak F, Hermans M, Berkefeld J, Raabe A, Neumann-Haefelin T, Steinmetz H, Sitzer M. «Serum glial fibrillary acidic protein as a biomarker for intracerebral haemorrhage in patients with acute stroke». *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006; 77: 181-4.
44. Allard L, Lescuyer P, Burgess J, Leung KY, Ward M, Walter N, Burkhard PR, Corthals G, Hochstrasser DF, Sanchez JC. «ApoC-I and ApoC-III as potential plasmatic markers to distinguish between ischemic and hemorrhagic stroke». *Proteomics.* 2004; 4: 2242-51.
45. Saenger AK, Christenson RH. «Stroke biomarkers: progress and challenges for diagnosis, prognosis, differentiation, and treatment». *Clin Chem.* 2010; 56: 21-33.
46. Whiteley W, Tseng MC, Sandercock P. «Blood biomarkers in the diagnosis of ischemic stroke: a systematic review». *Stroke.* 2008; 39):2902-9.
47. Jensen MB, Chacon MR, Sattin JA, Aleu A, Lyden PD. «The promise and potential pitfalls of serum biomarkers for ischemic stroke and transient ischemic attack». *Neurologist.* 2008; 14: 243-6.
48. Foerch C, Montaner J, Furie KL, Ning MM, Lo EH. «Invited Article: Searching for oracles? Blood biomarkers in acute stroke». *Neurology.* 2009; 73: 393-9.

49. Laskowitz DT, Kasner SE, Saver J, Remmel KS, Jauch EC; BRAIN Study Group. «Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke: the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study». *Stroke*. 2009; 40: 77-85.
50. Castellanos M, Serena J. «Applicability of biomarkers in ischemic stroke». *Cerebrovasc Dis*. 2007;24 (Suppl 1):7-15.
51. Montaner J. «Stroke biomarkers: Can they help us to guide stroke thrombolysis?». *Drug News Perspect*. 2006; 19: 523-32.
52. Castellanos M, Sobrino T, Millán M, García M, Arenillas J, Nombela F, Brea D, Perez de la Ossa N, Serena J, Vivancos J, Castillo J, Dávalos A. «Serum cellular fibronectin and matrix metalloproteinase-9 as screening biomarkers for the prediction of parenchymal hematoma after thrombolytic therapy in acute ischemic stroke: a multicenter confirmatory study». *Stroke*. 2007; 38: 1855-9.
53. Foerch C, Wunderlich MT, Dvorak F, Humpich M, Kahles T, Goertler M, Alvarez-Sabín J, Wallesch CW, Molina CA, Steinmetz H, Sitzer M, Montaner J. «Elevated serum S100B levels indicate a higher risk of hemorrhagic transformation after thrombolytic therapy in acute stroke». *Stroke*. 2007; 38: 2491-5.
54. Ribo M, Montaner J, Molina CA, Arenillas JF, Santamarina E, Quintana M, Alvarez-Sabín J. «Admission fibrinolytic profile is associated with symptomatic hemorrhagic transformation in stroke patients treated with tissue plasminogen activator». *Stroke*. 2004; 35: 2123-7.
55. Kimura K, Shibasaki K, Iguchi Y, Aoki J, Sakai K, Sakamoto Y, Kobayashi K. «The combination of elevated BNP and AF as a predictor of no early recanalization after IV-t-PA in acute ischemic stroke». *J Neurol Sci*. 2010;290: 37-40.

56. Fernandez-Cadenas I, Mendioroz M, Munuera J, Alvarez-Sabin J, Rovira A, Quiroga A, Corbeto N, Rubiera M, Delgado P, Rosell A, Ribó M, Molina CA, Montaner J. «Lower concentrations of thrombin-antithrombin complex (TAT) correlate to higher recanalisation rates among ischaemic stroke patients treated with t-PA». *Thromb Haemost.* 2009; 102: 759-64.
57. Pérez de la Ossa N, Sobrino T, Silva Y, Blanco M, Millán M, Gomis M, Agulla J, Araya P, Reverté S, Serena J, Dávalos A. «Iron-related brain damage in patients with intracerebral hemorrhage». *Stroke.* 2010; 41: 810-3.
58. Foerch C, Otto B, Singer OC, Neumann-Haefelin T, Yan B, Berkefeld J, Steinmetz H, Sitzer M. «Serum S100B predicts a malignant course of infarction in patients with acute middle cerebral artery occlusion». *Stroke.* 2004; 35: 2160-4.
59. Serena J, Blanco M, Castellanos M, Silva Y, Vivancos J, Moro MA, Leira R, Lizasoain I, Castillo J, Dávalos A. «The prediction of malignant cerebral infarction by molecular brain barrier disruption markers». *Stroke.* 2005; 36: 1921-6.
60. Manso H, Krug T, Sobral J, Albergaria I, Gaspar G, Ferro JM, Oliveira SA, Vicente AM. «Variants of the Matrix Metalloproteinase-2 but not the Matrix Metalloproteinase-9 genes significantly influence functional outcome after stroke». *BMC Med Genet.* 2010; 11: 40.
61. Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, Sandercock P. «Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic review». *Stroke.* 2009; 40: e380-9.
62. Rosell A, Lo EH. «Multiphasic roles for matrix metalloproteinases after stroke». *Curr Opin Pharmacol.* 2008; 8: 82-9.
63. Sang QX, Jin Y, Newcomer RG, Monroe SC, Fang X, Hurst DR, Lee S, Cao Q, Schwartz MA. «Matrix metalloproteinase inhibitors as prospective agents for the

prevention and treatment of cardiovascular and neoplastic diseases». *Curr Top Med Chem.* 2006; 6: 289-316.

64. Jian Liu K, Rosenberg GA. «Matrix metalloproteinases and free radicals in cerebral ischemia». *Free Radic Biol Med.* 2005; 39: 71-80.

65. Lovering F, Zhang Y. «Therapeutic potential of TACE inhibitors in stroke». *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.* 2005; 4(2):161-8.

66. Schönbeck U, Libby P. «CD40 signaling and plaque instability». *Circ Res.* 2001; 89: 1092-103.

67. Yamazaki M, Uchiyama S, Maruyama S. «Alterations of haemostatic markers in various subtypes and phases of stroke». *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1993; 4: 707-12.

68. Altès A, Abellán MT, Mateo J, Avila A, Martí-Vilalta JL, Fontcuberta J. «Hemostatic disturbances in acute ischemic stroke: a study of 86 patients». *Acta Haematol.* 1995;94(1):10-5.

69. Feinberg WM, Erickson LP, Bruck D, Kittelson J. «Hemostatic markers in acute ischemic stroke. Association with stroke type, severity, and outcome». *Stroke.* 1996; 27: 1296-300.

70. Takano K, Yamaguchi T, Uchida K. «Markers of a hypercoagulable state following acute ischemic stroke». *Stroke.* 1992; 23: 194-8.

71. Ageno W, Finazzi S, Steidl L, Biotti MG, Mera V, Melzi D'Eril G, Venco A. «Plasma measurement of D-dimer levels for the early diagnosis of ischemic stroke subtypes». *Arch Intern Med.* 2002; 162: 2589-93.

72. Haapaniemi E, Tatlisumak T. «Is D-dimer helpful in evaluating stroke patients? A systematic review». *Acta Neurol Scand.* 2009; 119: 141-50.

73. Dahl T, Kontny F, Slagsvold CE, Christophersen B, Abildgaard U, Odegaard OR, Morkrid L, Dale J. «Lipoprotein(a), other lipoproteins and hemostatic profiles in

- patients with ischemic stroke: the relation to cardiogenic embolism». *Cerebrovasc Dis.* 2000; 10: 110-7.
74. Masotti L, Ceccarelli E, Forconi S, Cappelli R. «Prognostic role of C-reactive protein in very old patients with acute ischaemic stroke». *J Intern Med.* 2005; 258: 145-52.
75. Ladenvall C, Jood K, Blomstrand C, Nilsson S, Jern C, Ladenvall P. «Serum C-reactive protein concentration and genotype in relation to ischemic stroke subtype». *Stroke.* 2006; 37: 2018-23.
76. Terruzzi A, Valente L, Mariani R, Moschini L, Camerlingo M. «C-reactive protein and aetiological subtypes of cerebral infarction». *Neurol Sci.* 2008; 29: 245-9.
77. Montaner J, Perea-Gainza M, Delgado P, Ribó M, Chacón P, Rosell A, Quintana M, Palacios ME, Molina CA, Alvarez-Sabín J. «Etiologic diagnosis of ischemic stroke subtypes with plasma biomarkers». *Stroke.* 2008; 39: 2280-7.
78. Shibazaki K, Kimura K, Iguchi Y, Okada Y, Inoue T. «Plasma brain natriuretic peptide can be a biological marker to distinguish cardioembolic stroke from other stroke types in acute ischemic stroke». *Intern Med.* 2009;48: 259-64.
79. Naya T, Yukiiri K, Hosomi N, Takahashi T, Ohkita H, Mukai M, Koziol JA, Kohno M. «Brain natriuretic peptide as a surrogate marker for cardioembolic stroke with paroxysmal atrial fibrillation». *Cerebrovasc Dis.* 2008; 26: 434-40.
80. Yukiiri K, Hosomi N, Naya T, Takahashi T, Ohkita H, Mukai M, Masugata H, Murao K, Ueno M, Nakamura T, Dobashi H, Miki T, Kuroda Y, Kohno M. «Plasma brain natriuretic peptide as a surrogate marker for cardioembolic stroke». *BMC Neurol.* 2008; 8:45.

81. Park HY, Yun KH, Park DS. «Levels of Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products in Acute Ischemic Stroke without a Source of Cardioembolism». *J Clin Neurol*. 2009; 5: 126-32.
82. Yokota C, Minematsu K, Tomii Y, Naganuma M, Ito A, Nagasawa H, Yamaguchi T. «Low levels of plasma soluble receptor for advanced glycation end products are associated with severe leukoaraiosis in acute stroke patients». *J Neurol Sci*. 2009; 287: 41-4.
83. Chiang KH, Huang PH, Huang SS, Wu TC, Chen JW, Lin SJ. «Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products are associated with endothelial function and predict cardiovascular events in nondiabetic patients». *Coron Artery Dis*. 2009; 20: 267-73.
84. Tombul T, Atbas C, Anlar O. «Hemostatic markers and platelet aggregation factors as predictive markers for type of stroke and neurological disability following cerebral infarction». *J Clin Neurosci*. 2005; 12: 429-34.
85. Shah AB, Beamer N, Coull BM. «Enhanced in vivo platelet activation in subtypes of ischemic stroke». *Stroke*. 1985; 16: 643-7.
86. Cha JK, Jo WS, Shin HC, Bae HR, Ho JM, Kim JW. «Increased platelet CD63 and P-selectin expression persist in atherosclerotic ischemic stroke». *Platelets*. 2004; 15:3-7.
87. Tsai NW, Chang WN, Shaw CF, Jan CR, Chang HW, Huang CR, Chen SD, Chuang YC, Lee LH, Wang HC, Lee TH, Lu CH. «Levels and value of platelet activation markers in different subtypes of acute non-cardio-embolic ischemic stroke». *Thromb Res*. 2009; 124: 213-8.
88. Soncini M, Casazza F, Mattioli R, Bonfardeci C, Motta A, Cimminiello C. «Hypercoagulability and chronic atrial fibrillation: the role of markers of thrombin generation». *Minerva Med*. 1997; 88: 501-5.

89. Furie KL, Rosenberg R, Thompson JL, Bauer K, Mohr JP, Rosner B, Sciacca R, Barzegar S, Thornell B, Costigan T, Kistler JP. «Thrombin generation in non-cardioembolic stroke subtypes: the Hemostatic System Activation Study». *Neurology*. 2004; 63: 777-84.
90. Kunte H, Kunte G, Busch MA, Weichert W, Rückert RI, Harms L. «Differences in carotid plaque content of macrophages, T cells and MMP-9 between patients with embolic and hemodynamic cerebral ischemia due to symptomatic carotid stenosis». *Atherosclerosis*. 2010 [pendent d'impressió].
91. Xu H, Tang Y, Liu DZ, Ran R, Ander BP, Apperson M, Liu XS, Khoury JC, Gregg JP, Pancioli A, Jauch EC, Wagner KR, Verro P, Broderick JP, Sharp FR. «Gene expression in peripheral blood differs after cardioembolic compared with large-vessel atherosclerotic stroke: biomarkers for the etiology of ischemic stroke». *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008; 28: 1320-8.
92. Kistler JP. «Cerebral embolism». *Compr Ther*. 1996; 22: 515-30.
93. Jabaudon D, Sztajzel J, Sievert K, Landis T, Sztajzel R. «Usefulness of ambulatory 7-day ECG monitoring for the detection of atrial fibrillation and flutter after acute stroke and transient ischemic attack». *Stroke*. 2004; 35: 1647-51.
94. Liao J, Khalid Z, Scallan C, Morillo C, O'Donnell M. «Noninvasive cardiac monitoring for detecting paroxysmal atrial fibrillation or flutter after acute ischemic stroke: a systematic review». *Stroke*. 2007; 38: 2935-40.
95. Dion F, Saudeau D, Bonnaud I, Friocourt P, Bonneau A, Poret P, Giraudeau B, Régina S, Fauchier L, Babuty D. «Unexpected low prevalence of atrial fibrillation in cryptogenic ischemic stroke: a prospective study». *J Interv Card Electrophysiol*. 2010 [pendent d'impressió].

96. Rouesnel P, Babuty D, Fauchier L, Saudeau D, Hurreesing R, Cosnay P, Garnier LF. «Comparative study of atrial vulnerability in patients with unexplained ischemic stroke or lone atrial paroxysmal fibrillation». *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 2003; 52: 220-5.
97. Berthet K, Lavergne T, Cohen A, Guize L, Bousser MG, Le Heuzey JY, Amarenco P. «Significant association of atrial vulnerability with atrial septal abnormalities in young patients with ischemic stroke of unknown cause». *Stroke*. 2000; 31: 398-403.
98. Amarenco P, Cohen A, Tzourio C, Bertrand B, Hommel M, Besson G, Chauvel C, Touboul PJ, Bousser MG. «Atherosclerotic disease of the aortic arch and the risk of ischemic stroke». *N Engl J Med New*. 1994; 331: 1474-9.
99. Kronzon I, Tunick PA. «Aortic atherosclerotic disease and stroke». *Circulation*. 2006 Jul 4;114(1):63-75. Review.
100. Ritter MA, Dittrich R, Thoenissen N, Ringelstein EB, Nabavi DG. «Prevalence and prognostic impact of microembolic signals in arterial sources of embolism. A systematic review of the literature». *J Neurol*. 2008; 255: 953-61.
101. Castellanos M, Serena J, Segura T, Pérez-Ayuso MJ, Silva Y, Dávalos A. «Atherosclerotic aortic arch plaques in cryptogenic stroke: a microembolic signal monitoring study». *Eur Neurol*. 2001;45: 145-50.
102. Weinberger J. «Noninvasive imaging of atherosclerotic plaque in the arch of the aorta with transcutaneous B-mode ultrasonography». *Neuroimaging Clin N Am*. 2002; 12: 373-80.
103. Harloff A, Dudler P, Frydrychowicz A, Strecker C, Stroh AL, Geibel A, Weiller C, Hetzel A, Hennig J, Markl M. «Reliability of aortic MRI at 3 Tesla in patients with acute cryptogenic stroke». *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008; 79: 540-6.

104. Doufekias E, Segal AZ, Kizer JR. «Cardiogenic and aortogenic brain embolism». *J Am Coll Cardiol.* 2008; 51: 1049-59.
105. Mas JL, Arquizan C, Lamy C, Zuber M, Cabanes L, Derumeaux G, Coste J. «Recurrent cerebrovascular events associated with patent foramen ovale, atrial septal aneurysm, or both». *N Engl J Med.* 2001; 345:1740–1746.
106. Kizer JR, Devereux RB. «Clinical practice. Patent foramen ovale in young adults with unexplained stroke». *N Engl J Med.* 2005; 353: 2361–2372.
107. Rahmatullah AF, Rahko PS, Stein JH. «Transesophageal echocardiography for the evaluation and management of patients with cerebral ischemia». *Clin Cardiol.* 1999; 22: 391-6.
108. Souteyrand G, Motreff P, Lusson JR, Rodriguez R, Geoffroy E, Dauphin C, Boire JY, Lamaison D, Cassagnes J. «Comparison of transthoracic echocardiography using second harmonic imaging, transcranial Doppler and transesophageal echocardiography for the detection of patent foramen ovale in stroke patients». *Eur J Ecocardiogr.* 2006; 7: 147-54.
109. Okada Y, Yamaguchi T, Minematsu K, Miyashita T, Sawada T, Sadoshima S, Fujishima M, Omae T. «Hemorrhagic transformation in cerebral embolism». *Stroke.* 1989; 20: 598-603.
110. Kizer JR. «Evaluation of the patient with unexplained stroke». *Coron Artery Dis.* 2008; 19: 535-40.
111. Sacco RL, Ellenberg JH, Mohr JP, Tatemichi TK, Hier DB, Price TR, Wolf PA. «Infarcts of undetermined cause: the NINCDS Stroke Data Bank». *Ann Neurol.* 1989; 25: 382-90.

112. Pascual-Figal DA, Antolinos MJ, Bayes-Genis A, Casas T, Nicolas F, Valdés M. «B-type natriuretic peptide release in the coronary effluent after acute transient ischaemia in humans». *Heart*. 2007; 93: 1077-80.
113. Fromm RE Jr. «Cardiac troponins in the intensive care unit: common causes of increased levels and interpretation». *Crit Care Med*. 2007 Feb;35(2):584-8.
114. Ay H, Arsava EM, Saribaş O. «Creatine kinase-MB elevation after stroke is not cardiac in origin: comparison with troponin T levels». *Stroke*. 2002; 33: 286-9.
115. Di Angelantonio E, Fiorelli M, Toni D, Sacchetti ML, Lorenzano S, Falcou A, Ciarla MV, Suppa M, Bonanni L, Bertazzoni G, Aguglia F, Argentino C. «Prognostic significance of admission levels of troponin I in patients with acute ischaemic stroke». *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005; 76: 76-81.
116. Guerrero-Peral AB, Guerrero-Peral AL, Carrascal Y, Bustamante R, Rodríguez MA, Ponce-Villares MA, Bueno-Rodríguez V. «Specific markers of myocardial injury in acute stroke». *Rev Neurol*. 2002; 35: 901-4.